文章编号:1000-5404(2014)18-1899-05

论著

不同刺激对N9小胶质细胞炎性细胞因子分泌及存活的影响

王本瀚[1],宋来君[2],姚安会[1],李经纶[1],唐 斌[1],刘 伟[1],卫润斐[1],曹付强[1] (450042 郑州,解放军第153中心医院神经外科[1];450052 郑州,郑州大学第一附属医院神经外科[2])

[摘要] **目的** 探讨不同刺激对N9小胶质细胞炎性细胞因子分泌及存活的影响。**方法** 体外培养N9小胶质细胞,分为空白对照组(Control组)、M1型刺激组(LPS+IFN-γ组)、M2型刺激组(IL-4组)。刺激24 h后,通过实时荧光定量PCR及ELISA检测N9小胶质细胞在极化状态下细胞因子的表达;同时体外培养N9小胶质细胞,分为Control组、LPS组、IFN-γ组、LPS+IFN-γ组及IL-4组,通过Hoechst-PI染色的方法检测不同因子对细胞死亡的影响,并用Western blot检测各组Caspase-3的表达。**结果** LPS+IFN-γ组N9细胞促炎因子表达明显高于Control组及IL-4组($P<0.01$),IL-4组N9细胞抑炎因子的表达明显高于Control组及LPS+IFN-γ组($P<0.01$)。在细胞存活方面,IFN-γ组及LPS+IFN-γ组N9细胞的死亡数及Caspase-3的表达明显高于Control组、LPS组、IL-4组($P<0.05$,$P<0.01$)。**结论** N9细胞可发生极化,在不同极化状态表达不同的炎性因子;IFN-γ可影响N9细胞的存活,其可能是通过Caspase-3而导致细胞死亡。

[关键词] N9小胶质细胞;极化;炎性细胞因子;细胞死亡
[中图法分类号] R322.8;R363.27;R392.11 [文献标志码] A

Inflammatory cytokines expression and survival of N9 microglia after different stimulations

Wang Benhan[1], Song Laijun[2], Yao Anhui[1], Li Jinglun[1], Tang Bin[1], Liu Wei[1], Wei Runfei[1], Cao Fuqiang[1] ([1]Department of Neurosurgery, No. 153 Central Hospital of PLA, Zhengzhou, Henan Province, 450042; [2]Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan Province, 450052, China)

[**Abstract**] Objective To investigate inflammatory cytokines expression and survival of N9 microglia after different stimulations. Methods *In vitro*, cultured N9 microglias were divided into a control group, a LPS+IFN-γ stimulation group (M1) and an IL-4 stimulation group (M2). Total RNA were extracted and inflammatory cytokine mRNA were detected through Q-RT-PCR and total culture media were collected to detect the concentration of inflammatory cytokines through ELISA, 24 h after stimulation. N9 microglias were divided into a control group, a LPS group, an IFN-γ group, a LPS+IFN-γ group, and an IL-4 group to study the effects of the cytokines on N9 microglia survival. The survival rates of each group were detected through Hoechst-PI staining. The expression of caspase-3 was detected by Western blotting. Results In the aspect of inflammatory cytokines secretion, the cells in group M1 expressed more pro-inflammatory cytokines than those in the control group and group M2 ($P<0.01$). The cells in group M2 expressed more anti-inflammatory cytokines than those in the other 2 groups ($P<0.01$). In the aspect of cell survival, we found the cells in the IFN-γ and LPS+IFN-γ groups had lower survival rates and higher caspase-3 expression than those in other groups ($P<0.05$, $P<0.01$). Conclusion N9 microglia can be polarized like macrophages and express different inflammatory cytokines after different stimulations. IFN-γ may affect the survival of N9 microglia though regulating Caspase-3 expression.

[**Key words**] N9 microglia; polarization; inflammatory cytokines; cell death

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81071600, 81100928). Corresponding author: Song Laijun, E-mail: laijunsong@126.com

[基金项目] 国家自然科学基金(81071600,81100928)
[通信作者] 宋来君,E-mail:laijunsong@126.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140710.1524.016.html(2014-07-10)

小胶质细胞是中枢神经系统的巨噬细胞,约占脑细胞总数的12%,与中枢神经系统其他胶质细胞不同,它来源于骨髓的髓样细胞,和血液中的单核细胞来源相同[1-2]。在正常情况下,中枢神经组织中的小胶质细胞处于静止状态,维持着中枢神经系统的稳态;在中枢神经系统受损伤后,血管的破坏、血脑屏障的开放以及细胞坏死等内源性的"危险因子"的释放,小胶质细胞通过模式识别受体(pattern-recognition receptors, PRRs),如Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)等而被激活[3-5],激活后的小胶质细胞能够释放大量的炎症因子。Zhang等[6]报道京尼平苷可以通过细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)及NF-κB信号通路抑制脂多糖(lipopolysaccharides,LPS)诱导的N9小胶质细胞炎症因子诱导型一氧化氮合酶(inducible NOS,iNOS)的表达,说明NF-κB信号通路参与了LPS促进N9小胶质细胞向M1型的极化过程。最近的研究表明,小胶质细胞和组织中的巨噬细胞一样,可以在经典的M1型刺激(LPS+IFN-γ)下极化为M1型,在M2型刺激(IL-4)下被极化为M2型[7]。M1型小胶质细胞能够分泌促炎细胞因子,而M2型小胶质细胞能够分泌抑炎细胞因子[7]。N9细胞是小胶质细胞的一种细胞系,前期的研究结果显示,给予N9小胶质细胞不同的刺激24 h后,N9小胶质细胞可以向不同的方向极化[8]。在不同极化状态的N9小胶质细胞在炎性细胞因子表达方面有无差异?这些刺激是否会影响到N9小胶质细胞的存活?为了阐明这些问题,我们采用体外培养的N9小胶质细胞系,给予经典的极化刺激促使N9细胞向不同的方向极化,进而观察不同刺激下N9细胞在各种因子表达上的差异,以及不同刺激对N9细胞存活的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

DMEM液(Gibco 12100-046)、胎牛血清(FBS,Gibco 16000-044)、L-谷氨酰胺(Gibco 21051-024)、"双抗溶液"(Gibco 15140122)、胰蛋白酶(Sigma T-4799)、EDTA(Sigma E-6635)、D-PBS(Gibco 21600-010)、25 mm^2培养瓶、6孔培养板、LPS(Sigma L4391 *E. coli* 0111: B4)、IFN-γ(PEPROTECH 375-05)、IL-4(PEPROTECH 214-14)。TRIzol Reagent试剂盒(Invitrogen 15596-062)、Prime-Script™ RT reagent kit(TaKaRa)、荧光实时定量试剂盒SYBR Premix *Ex Taq*™ Ⅱ(TaKaRa Code: DRR081A)。

1.2 方法

1.2.1 N9小胶质细胞的培养 N9小胶质细胞按1×10^5/mL的密度接种至25 cm^2培养瓶或6孔培养板中,用含10% FBS、1%"双抗溶液"、0.002 mol/L L-谷氨酰胺的DMEM于37 ℃,5% CO_2孵箱中培养4 h待细胞贴壁备用。

1.2.2 细胞分组 细胞极化:将N9小胶质细胞培养于25 cm^2培养瓶中,分别给予:①10% FBS的DMEM培养基(Control组);②含10% FBS的DMEM培养基中加入20 ng/mL IL-4;③含10% FBS的DMEM培养基中加入100 ng/mL LPS和20 ng/mL INF-γ。刺激24 h后,收集细胞上清,提取细胞总RNA,进行Hoechst-PI染色。

细胞存活:在上述实验中,发现LPS+INF-γ组N9小胶质细胞死亡明显多于其他2组,为进一步验证,我们将小胶质细胞培养于6孔板中,分别给予:①10% FBS的DMEM培养基(Control组);②含10% FBS的DMEM培养基中加入20 ng/mL IL-4;③含10% FBS的DMEM培养基中加入100 ng/mL LPS和20 ng/mL INF-γ;④含10% FBS的DMEM培养基中加入100 ng/mL LPS;⑤含10% FBS的DMEM培养基中加入20 ng/mL INF-γ。以上含不同刺激因子的培养基培养24 h后,通过Hoechst-PI染色法对细胞存活进行检测。

1.2.3 实时荧光定量PCR 将上述各组细胞刺激24 h后,按照TRIzol Reagent试剂盒说明书提取各组细胞总RNA,按照PrimeScript™ RT reagent kit试剂盒说明书20 μL体系反转录成cDNA,反转录产物所得cDNA 5倍稀释依据SYBR Premix *Ex Taq*™ Ⅱ(TaKaRa Code: DRR081A)检测基因的表达情况。反应体系:SYBR® Premix *Ex Taq*™Ⅱ(2×)10 μL;正义链0.8 μL;反义链0.8 μL(引物序列见表1,大连生工生物有限公司合成);cDNA溶液(RT反应液)2 μL;dH_2O 6.4 μL,Total 20 μL。扩增条件:反应程序用两步法,95 ℃预变性3 min,进行40个循环的反应:95 ℃ 10 s,60 ℃ 30 s。每个样本设3个复孔。

表1 PCR引物序列

基因	正义链(5′→3′)	反义链(5′→3′)
NF-κB	ATGGCAGACGATGATCCCTAC	TGTTGACAGTGGTATTTCTGGTG
IKK	AAGCACCCCTGGAAGAACC	CCTGCTCTGAAGGCAGATGTA
IL-1	CTTCAGGCAGGCAGTATCAC	CCAGCAGGTTATCATCATCATCC
TNF-α	ACACCATGAGCACAGAAAGC	GCCACAAGCAGGAATGAGAAG
IL-4	GGTCTCAACCCCCAGCTAGT	GCCGATGATCTCTCTCAAGTGAT
IL-10	GCTCTTACTGACTGGCATGAG	CGCAGCTCTAGGAGCATGTG
β-actin	AGAAGGACTCCTATGTGGGTGA	CATGAGCTGGGTCATCTTTTCA

1.2.4 ELISA 不同组N9小胶质细胞培养24 h后,收集细胞上清,按照ELISA试剂盒(R&D,USA)说明步骤,检测培养上清中炎性细胞因子(IL-10、TNF-α、IL-1β)的浓度。

1.2.5 Hoechst-PI染色 将刺激后的各组N9小胶质细胞用0.1% PBS漂洗5 min×3次,然后加入Hoechst 33342染液,终浓度5 μg/mL;37 ℃,避光染色10 min;0.1% PBS漂洗5 min×3次,然后继续加入PI染液,终浓度15 μg/mL,4 ℃,避光反应10 min,之后用0.1% PBS漂洗5 min×3次,再用4%多聚甲醛固定后,Olympus BX51荧光显微镜观察并照相。每孔随机拍摄4个区域,用Hoechst阳性细胞代表细胞数,PI阳性细胞代表死亡细胞,然后用Image Pro Plus 6.0软件分别统计Hoechst阳性细胞数及PI阳性细胞数。然后用PI阳性细胞数/Hoechst阳性细胞数来显示细胞死亡率。

1.2.6 Western blot检测 将各组N9小胶质细胞培养24 h后,冰PBS洗2次,然后加入RIPA裂解液(50 mmol/L Tris-HCl,pH 8.0,5 mmol/L EDTA,150 mmol/L NaCl,0.5%脱氧胆酸,0.1% SDS,1 mmol/L DTT,20 μg/mL抑肽酶,1 mmol/L

PMSF,5 mmol/L 氟化钠和 1 mmol/L 原钒酸钠),冰上裂解并收集细胞裂解液,13 000 r/min 离心 10 min,取上清,按 3∶1加入 SDS,70 ℃煮 10 min,取出后立即放于冰上,经 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳后,100 V,湿转 1.5 h 至 PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉封闭 30 min后,加入一抗 Caspase-3(1∶500,Cell Signaling,USA),β-actin(1∶10 000,Jackson ImmunoResearch, USA)4 ℃孵育过夜,TBS 洗 3 次后,孵育二抗 2 h,ECL 显色法用 Bio-Rad image lab 系统显色并测量灰度比值。

1.2.7 统计学分析 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 OriginPro 7.0 统计软件进行单因素方差分析,采用 Tukey 检验和 Bonferron 检验。

2 结果

2.1 不同极化状态下 N9 小胶质细胞分泌功能的差异

给予 N9 小胶质细胞 M1 型的刺激(LPS + IFN-γ 组)后,炎性相关转录因子 NF-κB、蛋白激酶 IKK、促炎细胞因子 IL-1、TNF-α 的 mRNA 表达水平明显高于 Control 组和 IL-4 组($P < 0.01$);而给予 N9 小胶质细胞 M2 型的刺激(IL-4 组)后,IL-4、IL-10 mRNA 表达水平明显高于 Control 组和 LPS + IFN-γ 组($P < 0.01$,表 1)。

表 1 不同极化状态下 N9 小胶质细胞炎性细胞因子 mRNA 的表达($n = 3, \bar{x} \pm s$)

组别	NF-κB	IKK	IL-1	TNF-α	IL-4	IL-10
Control 组	1.05 ± 0.09[a]	1.08 ± 0.12[a]	1.11 ± 0.19[a]	1.01 ± 0.02[a]	1.05 ± 0.08[b]	1.09 ± 0.16[b]
IL-4 组	0.98 ± 0.03[a]	1.40 ± 0.09[a]	1.48 ± 0.20[a]	0.75 ± 0.14[a]	2.92 ± 0.67	11.42 ± 1.86
LPS + IFN-γ 组	1.91 ± 0.08	3.34 ± 0.20	14.70 ± 1.94	6.89 ± 0.68	0.94 ± 0.08[b]	0.74 ± 0.06[b]

a:$P < 0.01$,与 LPS + IFN-γ 组比较;b:$P < 0.01$,与 IL-4 组比较

进一步检测细胞培养上清中 IL-10、IL-1β、TNF-α 的浓度,结果显示:给予 N9 小胶质细胞 M2 型的刺激(IL-4 组)后,上清中抑炎细胞因子 IL-10 浓度明显高于 Control 组和 LPS + IFN-γ 组($P < 0.01$);而给予 N9 小胶质细胞 M1 型的刺激(LPS + IFN-γ 组)后,上清中分泌的促炎细胞因子 IL-1β、TNF-α 蛋白浓度明显高于 Control 组和 IL-4 组($P < 0.01$,表 2)。

表 2 不同极化状态下 N9 小胶质细胞炎性细胞因子蛋白浓度的检测(pg/mL,$n = 3$, $\bar{x} \pm s$)

组别	IL-10	IL-1β	TNF-α
Control 组	98.00 ± 12.73[a]	5.39 ± 0.63[b]	45.08 ± 3.78[b]
IL-4 组	160.56 ± 15.82	5.03 ± 0.43[b]	34.37 ± 3.53[b]
LPS + IFN-γ 组	91.00 ± 5.36[a]	26.85 ± 1.77	457.27 ± 15.69

a:$P < 0.01$,与 IL-4 组比较;b:$P < 0.01$,与 LPS + IFN-γ 组比较

2.2 不同因子对 N9 小胶质细胞存活的影响

在诱导 N9 小胶质细胞极化中,LPS + IFN-γ 死亡细胞数高于其他 2 组(图 1)。进一步给予不同的刺激,然后通过 Hoechst-PI 染色观察各组细胞死亡的情况。结果显示:与 Control 组比较,IFN-γ 组与 LPS + IFN-γ 组总细胞数(即 Hoechst 阳性细胞数)明显减少($P < 0.01$),而 LPS 组和 IL-4 组与 Control 组比较,总细胞数无统计学差异($P > 0.05$,图 2、3)。与 Control 组比较,IFN-γ 组和 LPS + IFN-γ 组 PI 阳性细胞率明显升高($P < 0.01$),而 LPS 组和 IL-4 组分别与 Control 组比较,PI 阳性率没有明显增加($P > 0.05$,图 2、4)。这些结果表明 IFN-γ 可以诱导 N9 小胶质细胞的死亡,而 IFN-γ 主要通过与细胞膜上受体结合后,引发一系列的级联反应。进一步提取各组蛋白,检测 Caspase-3 的表达情况,结果显示,IFN-γ 组和 LPS + IFN-γ 组 Caspase-3 的表达水平明显高于 Control 组($P < 0.05$,图 5)。结果提示:IFN-γ 可能通过 Caspase-3 引发细胞的死亡。

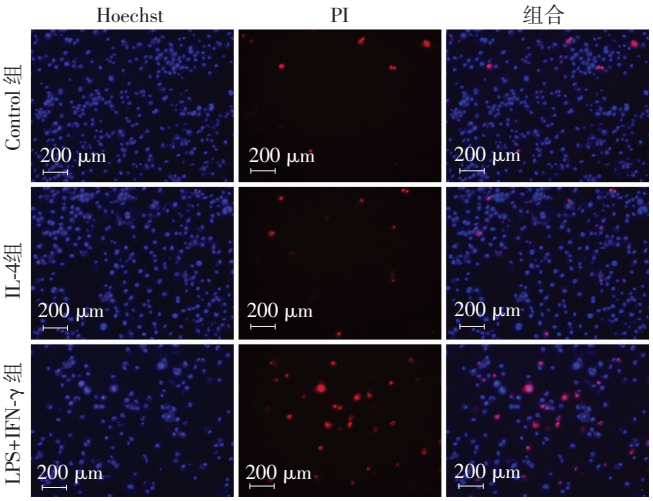


图 1 给予 N9 小胶质细胞不同刺激 24 h 后 Hoechst-PI 染色观察细胞极化情况

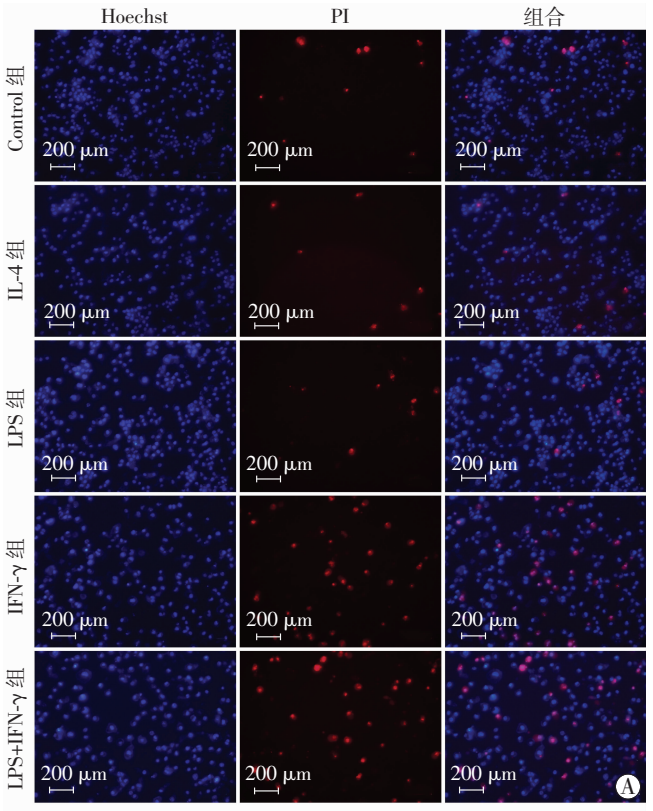
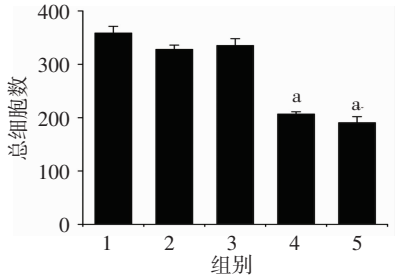
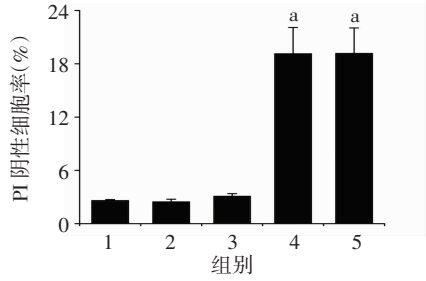


图 2 给予 N9 小胶质细胞不同刺激 24 h 后 Hoechst-PI 染色观察细胞存活情况



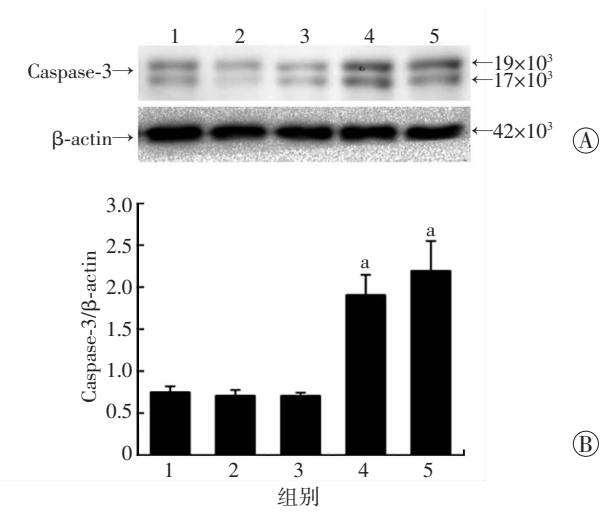
1:Control 组;2:IL-4 组;3:LPS 组;4:IFN-γ 组;5:LPS + IFN-γ 组
a:$P<0.01$,与 Control 组比较

图3 不同刺激条件下 N9 小胶质细胞存活的总细胞数统计结果



1:Control 组;2:IL-4 组;3:LPS 组;4:IFN-γ 组;5:LPS + IFN-γ 组
a:$P<0.01$,与 Control 组比较

图4 不同刺激条件下 N9 小胶质细胞存活的 PI 阳性细胞率统计结果



A:Western blot 检测结果;B:Caspase-3 相对灰度值统计结果
1:Control 组;2:IL-4 组;3:LPS 组;4:LPS + IFN-γ 组;5:IFN-γ 组
a:$P<0.05$,与 Control 组比较

图5 不同刺激条件下 N9 小胶质细胞 Caspase-3 蛋白的表达

3 讨论

中枢神经系统是传统意义上的“免疫豁免”器官[3],在受到损伤后会造成血脑屏障的破坏导致内源性(小胶质细胞)和外源性(中性粒细胞、巨噬细胞和淋巴细胞和自然杀伤细胞)炎性细胞的浸润。这些细胞分泌多种细胞因子如 IL-1、IL-6、IL-10、IFN-γ、TGF-β 和 TNF-α,它们引起或调节一系列的神经炎症反应,促进小胶质/巨噬细胞和星形胶质细胞的活化和迁移。

研究表明,巨噬细胞在不同的环境刺激下,展现出2种极化类型,被命名为 M1 型巨噬细胞(经典的、促炎的巨噬细胞)和 M2 型巨噬细胞(暂时活化的、抑炎的巨噬细胞)[9-11]。小胶质细胞作为中枢神经系统的巨噬细胞,在活化后也可以表现出同样的特性[7]。这些炎症反应可以诱导小胶质细胞发生极化。我们通过体外培养 N9 小胶质细胞,同样验证了其具有向不同方向极化的特性[8]。这说明 N9 细胞系可以作为研究小胶质细胞极化的工具。

我们对极化后的 N9 小胶质细胞的分泌功能进行检测,实时荧光定量 PCR 及 ELISA 检测结果显示给予 M1 型刺激后,N9 小胶质细胞能够表达更多的促炎细胞因子,而给予 M2 型刺激后,N9 小胶质细胞能够表达更多的抑炎细胞因子。LPS 能够通过激活 TLR4 进而激活 NF-κB、IKK,导致 iNOS 及 IL-12 的表达增加,从而促使巨噬细胞向 M1 方向极化[9]。这在我们的研究中也得到验证。Zhang 等[12]报道小鼠小胶质瘤细胞 BV2 能够被 LPS 极化,并且能够被 Rho 激酶的抑制剂法舒地尔调节。Zhang 等[6]的研究表明,LPS 通过 NF-κB 极化 N9 小胶质细胞的信号通路可以被京尼平苷阻断。另外研究表明促炎细胞因子(如 IL-1、TNF-α、iNOS)不利于中枢神经系统损伤的修复,而抑炎细胞因子(IL-4、IL-10、TGF-β)能够促进中枢神经系统损伤的修复[3,13-14]。Jin 等[15]的研究报道在小鼠大脑中动脉闭塞模型中,二甲双胍可以通过增加 M2 型小胶质细胞,进而促进新生血管及神经再生,最终促进功能的恢复。小胶质细胞的极化受到多种因素的影响,其在中枢神经系统中如何具体发挥作用,仍需要进一步的研究。

本研究还通过免疫荧光染色发现给予 IFN-γ 能够使 N9 小胶质细胞存活数量下降,死亡数明显增加。2006 年 Takeuchi 等[16]研究报道 IFN-γ 在多发性硬化症模型中可以诱导小胶质细胞凋亡,其机制可能是通过自我反馈机制导致的细胞凋亡,IFN-γ 在与细胞膜上受体结合后,主要通过 JAK-STAT-1 信号通路发挥作用,活化的 STAT-1 单体转移到核内,参与 IFN-γ 相关基因的表达[17]。Chang 等[18]报道 IFN-γ 可以通过 Ca^{2+} 通路,进而活化 Caspase-3 及 Caspase-9 诱导胰岛细胞死亡;Li 等[19]报道 IFN-γ 可以通过 IRF-1 因子导致人肝癌细胞的自噬及死亡。这些研究提示 IFN-γ 可以通过多种信号通路导致细胞死亡,本研究发现 IFN-γ 组 N9 小胶质细胞 Caspase-3 表达水平明显升高,其可能与 N9 小胶质细胞的死亡相关。在 N9 小胶质细胞,IFN-γ 具体通过什么通路活化 Caspase-3 而导致细胞死亡,还需要进一步的研究。

参考文献：

[1] Ransohoff R M, Cardona A E. The myeloid cells of the central nervous system parenchyma[J]. Nature, 2010, 468(7321): 253-262.

[2] Graeber M B, Streit W J. Microglia: biology and pathology[J]. Acta Neuropathol, 2010, 119(1): 89-105.

[3] Bhat R, Steinman L. Innate and adaptive autoimmunity directed to the central nervous system[J]. Neuron, 2009, 64(1): 123-132.

[4] Rivest S. Regulation of innate immune responses in the brain[J]. Nat Rev Immunol, 2009, 9(6): 429-439.

[5] Lehnardt S. Innate immunity and neuroinflammation in the CNS: the role of microglia in Toll-like receptor-mediated neuronal injury[J]. Glia, 2010, 58(3): 253-263.

[6] Zhang G, He J L, Xie X Y, *et al*. LPS-induced iNOS expression in N9 microglial cells is suppressed by geniposide via ERK, p38 and nuclear factor-kappaB signaling pathways[J]. Int J Mol Med, 2012, 30(3): 561-568.

[7] Michelucci A, Heurtaux T, Grandbarbe L, *et al*. Characterization of the microglial phenotype under specific pro-inflammatory and anti-inflammatory conditions: Effects of oligomeric and fibrillar amyloid-beta[J]. J Neuroimmunol, 2009, 210(1/2): 3-12.

[8] 张坤,柳霞,姚安会,等. 不同刺激因子对小胶质细胞系N9极化的影响[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2012, 28(1): 87-90.

[9] Lawrence T, Natoli G. Transcriptional regulation of macrophage polarization: enabling diversity with identity[J]. Nat Rev Immunol, 2011, 11(11): 750-761.

[10] Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: *in vivo* veritas[J]. J Clin Invest, 2012, 122(3): 787-795.

[11] Shechter R, Schwartz M. Harnessing monocyte-derived macrophages to control central nervous system pathologies: no longer 'if' but 'how'[J]. J Pathol, 2013, 229(2): 332-346.

[12] Zhang H, Li Y, Yu J, *et al*. Rho kinase inhibitor fasudil regulates microglia polarization and function[J]. Neuroimmunomodulation, 2013, 20(6): 313-322.

[13] Kigerl K A, Gensel J C, Ankeny D P, *et al*. Identification of two distinct macrophage subsets with divergent effects causing either neurotoxicity or regeneration in the injured mouse spinal cord[J]. J Neurosci, 2009, 29(43): 13435-13444.

[14] Gensel J C, Nakamura S, Guan Z, *et al*. Macrophages promote axon regeneration with concurrent neurotoxicity[J]. J Neurosci, 2009, 29(12): 3956-3968.

[15] Jin Q, Cheng J, Liu Y, *et al*. Improvement of functional recovery by chronic metformin treatment is associated with enhanced alternative activation of microglia/macrophages and increased angiogenesis and neurogenesis following experimental stroke[J]. Brain Behav Immun, 2014, 40: 131-142.

[16] Takeuchi H, Wang J, Kawanokuchi J, *et al*. Interferon-gamma induces microglial-activation-induced cell death: a hypothetical mechanism of relapse and remission in multiple sclerosis[J]. Neurobiol Dis, 2006, 22(1): 33-39.

[17] Schroder K, Hertzog P J, Ravasi T, *et al*. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions[J]. J Leukoc Biol, 2004, 75(2): 163-189.

[18] Chang I, Cho N, Kim S, *et al*. Role of calcium in pancreatic islet cell death by IFN-gamma/TNF-alpha[J]. J Immunol, 2004, 172(11): 7008-7014.

[19] Li P, Du Q, Cao Z, *et al*. Interferon-gamma induces autophagy with growth inhibition and cell death in human hepatocellular carcinoma (HCC) cells through interferon-regulatory factor-1 (IRF-1)[J]. Cancer Lett, 2012, 314(2): 213-222.

（**收稿**:2014-03-10;**修回**:2014-04-02）

（编辑 张 维）

关于医学符号的使用

统计学符号不论用哪种字母,也不论大写或小写一律都用斜体。要注意区分拉丁字母和希腊字母。例如均数的符号是字母$\bar{x}$,卡方的符号是希腊字母χ^2,自由度的符号是希腊文"υ",不是拉丁文"V"。样本的相关系数是英文"r",不能误为希腊文"γ"。

化学元素及核素在医学写作时一般多采用符号,都是拉丁字母正体大写。离子态是在右上角用数字加"-"或"+"表示。例如Na^+、Ca^{2+}、P^{3-}等,不采用Ca^{++}、P^{---}、Al^{+3}、O^{-2}表示。核素的核子素(质量数)应写在元素符号的左上角,例如:^{131}I、^{32}P。表示激发状态的m写在右上角,例如:$^{99}Tc^m$、$^{133}In^m$。在科技论文和专著中不应写核素的中文名称,即不能写成^{131}碘、铟^{133m}、P^{32}、Tc^{99m}。

近几年分子生物学发展很快,并已渗透到许多学科,大多数分子生物学名词术语的符号已有统一的确定形式,要对符号的来源及其内涵有深刻的了解,使用时不致发生错误,例如:RNA有rRNA(ribosomal RNA)、tRNA(transfer RNA)、mRNA(messenger RNA)3类。r、t、m是表示类型的符号应小写,RNA应大写。

本刊编辑部